



TITLE:

Identification of a small molecule that facilitates the differentiation of human iPSCs/ESCs and mouse embryonic pancreatic explants into pancreatic endocrine cells(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Kondo, Yasushi

CITATION:

Kondo, Yasushi. Identification of a small molecule that facilitates the differentiation of human iPSCs/ESCs and mouse embryonic pancreatic explants into pancreatic endocrine cells. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-01-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13141>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	近 藤 恭 士
論文題目	Identification of a small molecule that facilitates the differentiation of human iPSCs/ESCs and mouse embryonic pancreatic explants into pancreatic endocrine cells （ iPS 細胞から膵内分泌細胞への分化を促進する低分子化合物の同定）		
（論文内容の要旨）			
<p>【研究の背景】1 型糖尿病に対する治療法として膵臓移植、膵島移植の有効性が知られているが、ドナー臓器不足が問題となっている。そこで、無限の増殖能と膵臓を含む全身の臓器の細胞へと分化できる iPS 細胞から膵細胞を作製し、移植する再生医療の開発が期待されている。しかし、これまでに報告された iPS 細胞から膵細胞を作製する方法は、増殖因子（または成長因子）とよばれる高価なタンパク質製剤を使用するものがほとんどで、ヒトに移植するための大量の膵細胞を準備するにはコストが高くなることが懸念されている。そのため、安価な低分子化合物を用いた膵細胞の作製法の開発が望まれている。そこで、低分子化合物のスクリーニングを行い、iPS 細胞から膵インスリン産生β細胞様細胞への分化を促進させる化合物を同定し、その化合物を用いた新規の分化誘導法の開発を目指した。</p> <p>【研究結果】1) ヒト ES 細胞から作製した膵前駆細胞に約 1,250 種類の低分子化合物をスクリーニングし、膵前駆細胞からインスリン産生β細胞様細胞への分化を促進する化合物として、臨床で抗アレルギー薬として用いられているクロモグリク酸ナトリウムを同定した。また、クロモグリク酸ナトリウムは、多数のヒト iPS 細胞株とヒト ES 細胞株から膵インスリン産生β細胞様細胞の作製を 2 倍程度促進することが分かった。2) クロモグリク酸ナトリウムを使ってヒト iPS 細胞から作製した膵インスリン産生β細胞様細胞は、培養皿上で塩化カリウムなどによるインスリン分泌刺激に反応してインスリンを分泌する能力を有することが確認できた。作製した膵インスリン産生β細胞様細胞を 1 型糖尿病マウスに移植したところ、血糖値が低下した。クロモグリク酸ナトリウムは、ヒト iPS 細胞由来の膵前駆細胞に加えて、マウスの胎仔膵細胞をβ細胞に効率よく分化させることを見出した。これにより、クロモグリク酸ナトリウムは種の違いによらず、同じ作用を示すことが明らかになった。3) クロモグリク酸ナトリウムで膵前駆細胞を処理すると、インスリンを産生するβ細胞様細胞に加えて、グルカゴンを産生するα細胞様細胞やソマトスタチンを産生するδ細胞様細胞など複数種の膵内分泌細胞が分化誘導されることが分かった。その結果より、クロモグリク酸ナトリウムは、膵前駆細胞から多種類の内分泌細胞のもととなる内分泌前駆細胞への分化を促進することが明らかになった。また RNA シーケンシング解析を行った結果、クロモグリク酸ナトリウムは、膵臓をはじめとするさまざまな臓器や組織の発生や分化で重要な働きをするシグナル分子である骨形成因子 (bone morphogenetic protein; BMP)4 の発現を抑制することで、内分泌前駆細胞 (Neurogenin 3; NGN3) の分化を促進することが判明した。</p>			

【まとめ】 ヒト iPS 細胞やヒト ES 細胞から膵インスリン産生 β 細胞様細胞の分化を促進する低分子化合物である、クロモグリク酸ナトリウムを同定した。この発見によって膵臓の発生分化機構の解明が進むと考えられる。また、クロモグリク酸ナトリウムを用いた分化誘導法は、1 型糖尿病に対する移植用の膵細胞を低コストで供給できる方法の開発に貢献できると期待される。
（論文審査の結果の要旨）
本研究は、ヒト iPS 細胞からより効率的に INSULIN 産生細胞を分化誘導させる低分子化合物を同定し、その機序を解明することを目的とした。低分子化合物ライブラリーの網羅的探索により抽出されたクロモグリク酸ナトリウム（SCG）が、既報プロトコールへの追加で INSULIN 産生細胞誘導効率を 2 倍程度向上させることを、複数のヒト iPS/ES 細胞株を用いた分化誘導実験で証明した。SCG を用いて作製した INSULIN 産生細胞は KCL 刺激に反応したがグルコース濃度依存性インスリン分泌能は認めず、糖尿病モデルマウスへ移植後の血糖降下作用は短期間に留まった。iPS 細胞からの多段階分化誘導において、SCG は膵前駆細胞から内分泌前駆細胞への分化を促進し、結果的に INSULIN 産生細胞を含む複数種の内分泌細胞の産生が向上した。また、摘出マウス胎仔膵組織培養系でも内分泌前駆細胞への分化を促進させた。RNA シーケンシング解析から、SCG は骨形成因子（BMP)4 の発現を抑制することが判明した。SCG と BMP4 の共添加で内分泌前駆細胞への分化促進がキャンセルされたことから、SCG は BMP4 抑制を介して内分泌前駆細胞の分化を促進すると考えられた。
以上の研究は、新たな膵内分泌前駆細胞の分化制御機構を明らかにしており、さらなる分化誘導プロトコールの改良によって 1 型糖尿病の治療法開発に貢献する可能性がある。
したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 11 月 21 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日 以降